BD Neomycin Agar with 5% Sheep Blood

APPLICATION
La **BD Neomycin Agar with 5% Sheep Blood** (gélose néomycine avec 5 % de sang de mouton) est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement des streptocoques des groupes A et B.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE
Méthode microbiologique.
Les streptocoques du groupe A de Lancefield (*S. pyogenes*) et les streptocoques du groupe B (*S. agalactiae*) sont des bactéries Gram positives bêta-hémolytiques importantes sur le plan médical. Blanchette et Lawrence ont ajouté de la néomycine à une gélose au sang de mouton afin de favoriser la mise en évidence des streptocoques du groupe A de Lancefield et ceux du groupe B, en empêchant la croissance des autres microorganismes hémolytiques.[1,2] La plupart des staphylocoques, les *Enterobacteriaceae, Neisseria, Listeria* et certaines *Pseudomonas* spp. sont inhibés. Les streptocoques autres que ceux appartenant aux groupes A et B peuvent également se développer dans ce milieu.

La gélose néomycine additionnée de 5 % de sang de mouton contient une **Trypticase** Soy Agar II (TSA II) qui sert de base pour le milieu. Le sang de mouton défibriné fournit l'enrichissement nécessaire à la croissance des microorganismes exigeants. L'incorporation de 30 µg/mL de néomycine dans ce milieu provoque l'élimination de la flore normale, ce qui facilite la mise en évidence des streptocoques des groupes A et B.

REACTIFS
BD Neomycin Agar with 5% Sheep Blood
Formule* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	14,5 g
Digestion papaïque de semoule de soja	5,0
Chlorure de sodium	5,0
Gélose	14,0
Facteurs de croissance	1,5
Néomycine	0,03
Sang de mouton, défibriné	5 %

pH de 7,3 ± 0,2
*Ajustée et/ou complémentée en fonction des critères de performances imposés.

PRECAUTIONS
IVD . A usage professionnel uniquement.
Ne pas utiliser de boîte de Pétri présentant des signes de contamination microbienne, décoloration, dessiccation ou fissure, ou d'autres signes de détérioration.
Consulter le document **MODE D'EMPLOI GENERAL** pour plus d'informations concernant les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques et l'élimination des produits usagés.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION
Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans l'obscurité entre 2 et 8 °C, dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Les boîtes peuvent être ensemencées jusqu'à la date de péremption indiquée (voir l'étiquette de l'emballage), et incubées pendant les durées recommandées.

Des boîtes provenant d’une pile ouverte de 10 boîtes sont utilisables pour une semaine lorsqu’elles sont conservées entre +2 et +8 °C dans un endroit propre.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR
Ensemencer des échantillons représentatifs avec les souches suivantes (pour plus de détails, voir le document **MODE D'EMPLOI GENERAL**). Incuber les boîtes à 35 ± 2 °C dans une atmosphère aérobie complémentée en dioxyde de carbone.
Examiner les boîtes de Pétri au bout de 18 à 24 h afin de contrôler la bêta-hémolyse, la croissance, l'inhibition, la taille des colonies et les réactions hémolytiques.

Souches	**Croissance**
Streptococcus pyogenes ATCC 19615 (Groupe A)	Croissance bonne à importante ; colonies de petite taille avec bêta-hémolyse
Streptococcus agalactiae ATCC 12386 (Groupe B)	Croissance bonne à importante ; colonies de taille moyenne avec bêta-hémolyse
Escherichia coli ATCC 25922	Inhibition (partielle à) complète
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Inhibition partielle à complète, bêta-hémolyse possible
Sans ensemencement	Rouge (couleur sang)

MÉTHODE

Matériaux fournis
BD Neomycin Agar with 5% Sheep Blood (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm). Produits contrôlés microbiologiquement.

Matériaux non fournis
Milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Types d'échantillons
Il est possible d'utiliser ce milieu avec tous les types d'échantillons prélevés sur des patients susceptibles d'être infectés avec des streptocoques du groupe A (= *Streptococcus pyogenes*) et du groupe B (= *Streptococcus agalactiae*). Les échantillons valables comprennent, mais pas exclusivement, les écouvillons de gorge, vaginaux ou prélevés sur des nouveau-nés (voir aussi **CARACTERISTIQUES DES PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE**).

Mode opératoire du test
Ensemencer l'échantillon sans attendre, dès son arrivée au laboratoire, sur une boîte de Pétri de **BD Neomycin Agar with 5% Sheep Blood**, en roulant fermement l'écouvillon sur un tiers de la surface de la gélose. Strier le reste de la boîte à l'aide d'un ensemenceur à anse stérilisé, afin d'obtenir des colonies isolées. Sans stériliser à nouveau l'anse, piquer la gélose deux ou trois fois dans la zone présentant l'ensemencement le plus important. Cette opération provoque une croissance de sous-surface qui présente les réactions hémolytiques les plus fiables.
Ensemencer également une boîte de **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** ou de **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood** afin de mettre en évidence les microorganismes d'importance clinique qui risquent d'être inhibés sur le milieu sélectif.
Incuber les boîtes ensemencées à 35 ± 2 °C dans une atmosphère aérobie complémentée en dioxyde de carbone. Examiner les boîtes au bout de 18 à 24 h et 48 h, si nécessaire.

Résultats
Après 18 à 48 h d'incubation, les streptocoques du groupe A et du groupe B ont formé des colonies de petite taille (1 à 2 mm), translucides ou opaques, dont la couleur varie du blanc au gris et qui présentent une zone de bêta-hémolyse en périphérie. Ces colonies sont généralement de taille plus réduite que le contrôle non sélectif. Si des streptocoques bêta-hémolytiques sont présents, les zones ayant été ensemencées par piqûre présentent une bêta-hémolyse plus évidente que celle visible en périphérie des colonies.

Les *Neisseria* spp., les bâtonnets Gram négatifs et la plupart des staphylocoques bêta-hémolytiques sont inhibés. Même si les streptocoques des deux groupes A et B se développent dans ce milieu, il est possible de les différencier et d'identifier leur appartenance à l'un ou l'autre de ces groupes au moyen du test de sensibilité à la bacitracine (0,04 unité), effectué à l'aide de **BD Taxo** A discs. Pour plus d'informations, consulter le Mode d'emploi correspondant. Le recours à l'utilisation d'une trousse de groupage des streptocoques ou à un système d'identification biochimique constituent des méthodes d'identification du groupe de Lancefield plus fiables.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **BD Neomycin Agar with 5% Sheep Blood** est utilisée pour l'isolement sélectif des streptocoques des groupes A et B.[1,2] Même si ce milieu est sélectif et inhibe généralement les bâtonnets Gram négatifs, d'autres microorganismes et d'autres streptocoques (p. ex. *Streptococcus mitis*) peuvent s'y développer et produire parfois des colonies bêta-hémolytiques. Des tests biochimiques ou immunologiques doivent être effectués pour l'identification finale des isolats.

La **BD Neomycin Agar with 5% Sheep Blood** est un milieu moins sélectif que la **BD Group A Selective Strep Agar** (**ssA**) en ce qui concerne l'inhibition de la flore normalement présente dans la gorge. Il est conseillé d'utiliser le milieu **ssA** lorsque seule la présence de streptocoques du groupe A est présumée.

REFERENCES

1. Blanchette, L.P., and C. Lawrence. 1967. Group A streptococci screening with neomycin blood agar. Am. J. Clin. Pathol. 48:411-443.
2. Facklam, R.R., and J.A. Washington II. 1991. *Streptococcus* and related catalase-negative gram-positive cocci. *In:* A. Balows, W.J. Hausler, Jr., K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

CONDITIONNEMENT

BD Neomycin Agar with 5% Sheep Blood

N° réf. 254444 Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités par carton

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d’informations, contacter le représentant local de BD.



BD Diagnostic Systems
Tullastrasse 8 – 12
D-69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe
Becton Dickinson France SA
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix/France
Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 http://www.bd.com